

保幼激素类似物苯氧威对异色瓢虫 不同发育阶段的影响

尹素芬^{1,2}, 赵鑫¹, 王丽晓³, 李刚¹, 李光强¹, 赵静¹, 郑方强^{1,*}

(1. 山东农业大学昆虫学系, 山东泰安 271018;

2. 陕西省汉中市农业科学研究所, 陕西汉中 723000; 3. 山东省泰安市岱岳区农业局, 山东泰安 271021)

摘要:【目的】本研究旨在明确保幼激素类似物苯氧威对天敌异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 的影响, 并探讨其作用机理, 以便进行安全性评价并为科学使用提供理论依据。【方法】应用连叶浸渍法、浸渍法、点滴法和药膜法分别处理异色瓢虫卵、2 龄幼虫、蛹和成虫, 观察苯氧威对 4 个虫态的影响。【结果】用浓度为 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 的药液处理初产卵, 能抑制胚胎的发育; 但用高达 20 000 $\mu\text{g/mL}$ 的药液处理发育 2 d 的卵, 幼虫仍可正常孵化; 用浓度高达 4 000 $\mu\text{g/mL}$ 的药液浸渍 2 龄幼虫, 对幼虫的致死作用极小; 用浓度为 0.0001 $\mu\text{g/头}$ 的药液处理当天蛹, 形成蛹-成虫中间体, 羽化的成虫畸形; 用浓度为 0.0125 $\mu\text{g/mL}$ 的药液处理成虫, 24 h 后成虫的生命力受到明显影响。【结论】苯氧威对异色瓢虫初产卵有明显的毒杀作用, 严重阻碍蛹到成虫的变态和影响成虫的存活。在田间使用该杀虫剂时, 要避开异色瓢虫的敏感期。

关键词: 异色瓢虫; 苯氧威; 保幼激素类似物; 毒性; 胚胎发育; 蛹发育; 杀卵作用

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)11-1213-10

Effects of fenoxycarb, a juvenile hormone analog, on various developmental stages of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae)

YIN Su-Fen^{1,2}, ZHAO Xin¹, WANG Li-Xiao³, LI Gang¹, LI Guang-Qiang¹, ZHAO Jing¹, ZHENG Fang-Qiang^{1,*} (1. Department of Entomology, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Hanzhong Agricultural Science Institute, Hanzhong, Shaanxi 723000, China; 3. The Agricultural Bureau of Daiyue District, Tai'an, Shandong 271021, China)

Abstract: 【Objective】 This study focused on the effects of fenoxycarb, a juvenile hormone analog (JHA), on the ladybird *Harmonia axyridis* and discussed its mechanisms of action, so as to evaluate the risks of fenoxycarb application and provide theoretical basis for rational use of the JHA. 【Methods】 Toxicity of fenoxycarb to egg, 2nd instar larva, pupa and adult of *H. axyridis* was determined in the laboratory by using the methods of dipping, topical contact and residual film, respectively. 【Results】 Fenoxycarb significantly disrupted embryonic development of newly-laid eggs at the minimum concentration of 0.0001 $\mu\text{g/mL}$, but when the 2 d-old eggs were treated, the larvae could hatch even at the highest concentration of 20 000 $\mu\text{g/mL}$. The mortality of 2nd instar larvae was very low even at the highest concentration of 4 000 $\mu\text{g/mL}$. When pupae were treated, fenoxycarb had significant effects on pupal development with adult eclosion blocked, and pupa-adult intermediate and abnormalities of adults emerged at the minimum concentration of 0.0001 μg (a. i.)/larva. The adult vitality was affected significantly at 24 h after contact with fenoxycarb at the concentration of 0.0125 $\mu\text{g/mL}$. 【Conclusions】 Fenoxycarb had an obvious ovicidal action on newly-laid eggs of *H. axyridis*, seriously blocked the larval-pupal metamorphosis and affected the survival of the adults. When fenoxycarb is used in fields, the susceptible developmental stages of the ladybird should be avoided.

Key words: *Harmonia axyridis*; fenoxycarb; juvenile hormone analog; toxicity; embryonic development; pupal development; ovicidal action

保幼激素是由昆虫咽侧体分泌的具有萜烯单位 结构的一类激素, 能调节昆虫的生长、变态、等级分

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2003D01); 山东省教育厅自然科学研究资助项目(J00102)

作者简介: 尹素芬, 女, 1980 年生, 山东郯城人, 硕士, 研究方向为昆虫毒理学与害虫生物防治, E-mail: yinsufen@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: fqzheng@sdau.edu.cn

收稿日期 Received: 2009-07-27; 接受日期 Accepted: 2009-10-

化、行为、滞育、多态现象和生殖等生理功能 (Retnakaran *et al.*, 1985; Dhadialla *et al.*, 1998, 2005; Goodman and Granger, 2005; Flatt *et al.*, 2005)。20 世纪 70 年代人们合成了许多与天然保幼激素结构类似的萜烯类化合物 (如烯虫酯等) 用于害虫的防治。由于这些化合物在结构上存在不稳定性, 后来又合成了具有稳定性更高、生物活性更强的非萜烯类、芳香族保幼激素类似物 (juvenile hormone analog, JHA), 如苯氧威、蚊蝇醚等用于害虫的防治 (Dhadialla *et al.*, 1998, 2005)。天然保幼激素或保幼激素类似物能抑制昆虫正常的发育, 如干扰胚胎发育和影响变态 (Retnakaran *et al.*, 1985)。这些保幼激素类似物一般认为具有作用机制独特、生物活性高、杀虫谱广、毒性低、选择性强、不易产生抗性等优点。但是, 试验证明 JHA 对一些自然天敌具有不利影响 (Grenier and Grenier, 1993; Dhadialla *et al.*, 1998, 2005), 表现出与生物防治的不协调性。

在众多的 JHA 中, 苯氧威于 1982 年由瑞士 Ciba-Gaigy 公司开发, 作为杀白蚁剂进入市场。该杀虫剂尽管在结构上具有氨基甲酸酯基团, 杀虫作用却为非神经毒性, 而明显具有保幼激素类似物的生物活性, 即胃毒作用和强烈的杀卵活性, 也有一定的触杀作用, 可用于防治刺吸类害虫、鳞翅目害虫、贮粮害虫和卫生害虫 (Grenier and Grenier, 1993; Dhadialla *et al.*, 1998, 2005)。近年来, 随着人们对无公害和环境友好型杀虫剂的青睐, 国内对苯氧威的生产及应用逐渐重视起来。但是苯氧威对许多自然天敌也存在不利影响, 涉及双翅目、鞘翅目、半翅目、膜翅目、脉翅目等捕食性和寄生性昆虫 (Grenier and Grenier, 1993; Mendel *et al.*, 1994; Bortolotti *et al.*, 2000; Liu and Chen, 2001; Dhadialla *et al.*, 2005)。为了科学使用该杀虫剂, 我们用苯氧威对重要天敌异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 进行了室内生物活性测定, 以弄清对异色瓢虫的不利影响, 同时对该杀虫剂的田间使用进行了评价, 并结合当前对保幼激素及其类似物作用机理的研究, 初步探讨了苯氧威的作用机理。

1 材料与方法

1.1 试虫

2008 年 4 月下旬, 自泰山采集异色瓢虫越冬成虫, 带回室内在马灯罩 (上口径 \times 下口径 \times 高 =

6.5 cm \times 8 cm \times 16 cm) 中饲养, 幼虫在指形管 (直径 \times 高 = 2 cm \times 7 cm) 内单头饲养。饲喂猎物为桃蚜 *Myzus persicae*, 每天更换新的蚜虫。异色瓢虫放于 LRH-250A 型生化培养箱 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, L:D = 16:8, RH 50% ~ 60%) 内养殖。

1.2 药剂处理

以丙酮 (天津市大茂化学试剂厂) 为溶剂, 将 95% 的苯氧威原药 (郑州沙隆达农药公司) 配制成 10 000 $\mu\text{g/mL}$ 母液, 4°C 冰箱内保存。

1.3 苯氧威对异色瓢虫卵的影响

(1) 将带有卵块 (0 ~ 24 h) 的叶片剪下放入保湿 (以湿润棉球保湿) 培养皿 ($\Phi = 9$ cm) 内, 用去离子水把苯氧威母液稀释成 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 和 1 $\mu\text{g/mL}$ 浓度。用尖头镊子夹住带有卵块的叶片 (约 1 cm \times 2 cm), 在药液中浸渍 5 s。由低浓度到高浓度依次处理, 每浓度重复 3 次, 对照浸渍去离子水。取出后晾干, 放入保湿培养皿内。置于生化培养箱中培养 (条件同前)。将卵块放在 Olympus 双目解剖镜下定时、持续观察记录其颜色和形态变化, 直至幼虫孵化或死亡, 统计孵化率和死亡率。

(2) 取产卵发育 2 d (24 ~ 48 h) 的卵块, 用去离子水将苯氧威母液稀释成 50, 100, 200, 400, 800, 1 000, 2 000 和 20 000 $\mu\text{g/mL}$ 8 个浓度, 处理方法同上。观察其孵化率和死亡率。

1.4 苯氧威对异色瓢虫幼虫的影响

挑选个体大小一致的 2 龄幼虫放入浸虫器中, 在配制好的 250, 500, 1 000, 2 000 和 4 000 $\mu\text{g/mL}$ 药液中浸渍 5 s。从低浓度到高浓度依次处理, 对照用去离子水。取出后晾干, 放入罐头瓶中, 饲喂足量的桃蚜。每浓度处理 15 头幼虫, 重复 4 次。24 h 和 48 h 分别观察记录其死亡数, 死亡的标准是用毛笔尖轻轻碰触虫体不动。

1.5 苯氧威对异色瓢虫蛹的影响

化蛹当天 (0 ~ 24 h), 挑取发育一致的健康蛹放入保湿培养皿中备用, 每皿 15 头。采用微量点滴法 (张宗炳, 1988), 点滴时将 95% 苯氧威用丙酮稀释成 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 6 个浓度, 用手持微量点滴器 (原上海昆虫研究所研制) 在蛹胸部背板滴加 0.5 μL 药液 2 滴。待溶剂挥发后将蛹移入培养皿内, 并保湿 (方法同上)。置于上述条件下的恒温生化培养箱内。每处理 6 个重复, 另设丙酮为空白对照。观察蛹的发育进度并统计蛹死亡率和虫体畸形率。

1.6 苯氧威对异色瓢虫成虫的影响

以丙酮将母液稀释成 0.0125, 0.025, 0.05, 0.25 和 0.5 μg/mL 5 个浓度, 每浓度取药液 0.3 mL, 滴于 2 cm × 7 cm 的指形管中, 迅速滚动指形管, 即在管内壁上形成均匀的药膜, 对照组用丙酮处理。待丙酮挥发后, 将挑选好的试虫放入管内, 用棉塞封口, 每管 15 头成虫, 重复 4 次。室温放置 24 和 48 h 后检查结果, 以不能正常爬行为死亡, 对照死亡率大于 10% 为无效试验。

1.7 数据统计与处理

按照常规方法计算死亡率, 用 Abbott 公式 [$p = (p' - c) / (1 - c)$, p' 为未校正死亡率, c 为对照组死亡率] 求得校正死亡率, 用 DPS 数据处理系统得出回归方程, 然后求出半致死浓度 (LC_{50}) 和 95% 致死浓度 (LC_{95})。在 $P < 0.05$ 时, 进行 F 检验, 用最小差异检验法 (LSD) 进行单因素方差分析

(One-way ANOVA) (唐启义和冯明光, 2007)。

2 结果与分析

2.1 苯氧威对异色瓢虫卵的影响

2.1.1 苯氧威对异色瓢虫初产卵的影响: 用连叶浸渍法处理异色瓢虫初产卵, 观察至第 6 天, 苯氧威各浓度引致的死亡率结果见表 1。经拟合得毒力回归方程为 $y = 0.9939x + 7.2677$ ($R = 0.9454$, $P = 0.0152$)。由方程得 $LC_{50} = 0.0052$ μg/mL, $LC_{95} = 0.2362$ μg/mL。由表 1 和 LC_{50} 看出, 苯氧威在浓度极低时就能抑制异色瓢虫卵的发育, 并且随着药剂浓度的增加幼虫孵化率明显降低, 在浓度为 0.1 μg/mL 时, 死亡率高达 91.40%。方差分析结果表明, 各处理间死亡率存在显著差异 ($\alpha = 0.05$)。

表 1 苯氧威对异色瓢虫初产卵的影响
Table 1 Effect of fenoxycarb on newly-laid eggs of *Harmonia axyridis*

浓度 (μg/mL) Concentration	卵数 Number of eggs	孵化率 (%) Hatchability	死亡率 (%) Mortality	校正死亡率 (%) Corrected mortality
0	95	93.68	6.32	0.00 ± 0.18 f
0.0001	69	84.06	15.94	10.32 ± 1.31 e
0.001	65	74.00	26.00	21.09 ± 3.06 d
0.01	87	40.25	59.75	57.13 ± 3.85 c
0.1	81	8.60	91.40	90.80 ± 1.06 b
1	68	0.00	100.00	100.00 ± 0.00 a

同列数据后的不同小写字母表示差异显著性 (One-way ANOVA, F -test, $P < 0.05$); 校正死亡率数据为平均值 ± 标准误; 下表同。
Different lowercase letters following the data in the column indicate significant differences ($P < 0.05$) tested by One-way ANOVA. Corrected mortality = Mean ± SE. The same for the following tables.

通过观察, 初产卵的中毒症状主要表现在以下方面: (1) 浓度 1 μg/mL, 停止发育, 一直保持初产时的橘黄色或浅灰色 (图版 I : F); 非正常变色, 有多种颜色出现, 且颜色逐渐加深, 变暗黑或黑褐, 干瘪, 破裂 (排除干燥的原因), 卵液流出 (图版 I : G); (2) 浓度 0.001, 0.01 和 0.1 μg/mL 时幼虫胚胎体节或附肢可现, 但不能孵化出来 (图版 I : C, D, E); (3) 浓度 0.0001 μg/mL 时幼虫只有头、胸部孵出, 腹部留在卵内, 即出现所谓的半孵化幼虫 (图版 I : B)。(4) 浓度 0.0001 μg/mL 时孵化时间延长且孵出的幼虫个体较正常孵出幼虫偏

大, 体色发白, 行动缓慢, 停止蜕皮形成超 1 龄幼虫, 最后死亡 (图版 I : I)。

2.1.2 苯氧威对发育至第 2 天卵的影响: 用连叶浸渍法处理异色瓢虫发育至第 2 天的卵, 到第 5 天的死亡率结果见表 2。毒力回归方程为 $y = 0.0940x + 3.1924$ ($R = 0.4065$, $P = 0.3176$)。用浓度高达 20 000 μg/mL 的药液处理 2 d 的卵, 幼虫仍然可以孵化。且各浓度对卵的影响差异极不显著, 浓度与死亡率的相关性也很低。通过比较看出, 初产卵对苯氧威敏感, 而开始胚胎发育的卵对该药剂不敏感。

表 2 苯氧威对发育至第 2 天卵的影响

Table 2 Effect of fenoxycarb on 2 day-old eggs of *Harmonia axyridis*

浓度 (μg/mL)	卵数	孵化率 (%)	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
Concentration	Number of eggs tested	Hatchability	Mortality	Corrected mortality
0	93	91.39	8.61	0.00 ± 0.63 b
50	57	89.55	10.45	2.08 ± 1.63 b
100	76	85.54	14.46	6.46 ± 1.24 a
200	80	85.04	14.96	7.00 ± 2.02 a
400	77	85.73	14.27	6.24 ± 0.53 a
800	77	89.61	10.39	1.97 ± 0.71 b
1 000	74	83.84	16.16	8.32 ± 1.58 a
2 000	69	82.64	17.36	9.63 ± 1.12 a
20 000	80	84.95	15.05	7.00 ± 0.29 a

2.2 苯氧威对异色瓢虫 2 龄幼虫的影响

由表 3 看出,用浸渍法处理 2 龄幼虫,对其生

命力影响不大。处理后,48 h 的死亡率与对照无显著差异。

表 3 苯氧威对异色瓢虫 2 龄幼虫的影响

Table 3 Effect of fenoxycarb on 2nd instar larvae of *Harmonia axyridis*

浓度 (μg/mL)	幼虫数	死亡率 (%)		校正死亡率 (%)	
		Mortality		Corrected mortality	
Concentration	Number of larvae tested	24 h	48 h	24 h	48 h
0	60	1.67	3.33	0.00 ± 1.67 ab	0.00 ± 2.22 a
250	60	0.00	1.67	-1.70 ± 0.00 b	-1.72 ± 2.22 a
500	60	1.67	3.33	0.00 ± 1.67 ab	0.00 ± 2.22 a
1 000	60	3.33	5.00	1.69 ± 1.92 ab	1.73 ± 2.22 a
2 000	60	5.00	6.67	3.39 ± 1.67 ab	3.46 ± 3.85 a
4 000	60	3.33	5.00	1.69 ± 1.92 a	1.73 ± 2.22 a

2.3 苯氧威对异色瓢虫蛹的影响

点滴法处理当天蛹,至第 5 天的死亡率和畸形率结果见表 4,蛹死亡率和畸形率随苯氧威浓度的提高而增大。畸形率乃指蛹畸形、蛹-成虫中间体和成虫畸形个体总数所占的百分率。经拟合得死亡率的毒力回归方程 $y = 4.8717 + 0.3057x$ ($R = 0.9270$, $P = 0.0078$)。由方程得 $LC_{50} = 2.6274 \mu\text{g}/\text{头}$,

$LC_{95} = 630.3870 \text{ mg}/\text{头}$ 。畸形率的回归方程为 $y = 0.1959x + 4.7165$ ($R = 0.9671$, $P = 0.0016$),由方程得 $LC_{50} = 27.9670 \mu\text{g}/\text{头}$, $LC_{95} = 6941.5498 \text{ g}/\text{头}$ 。方差分析表明,对于死亡率来说,0.1 和 1 $\mu\text{g}/\text{头}$ 的结果差异不显著,其余几个处理的差异显著;对于畸形率来说,1 和 10 $\mu\text{g}/\text{头}$ 的结果差异不显著,而其余处理间差异显著。

表 4 苯氧威原药对异色瓢虫蛹的影响

Table 4 Effect of fenoxycarb on *Harmonia axyridis* pupae

浓度 (μg/pupa)	蛹数	死亡率 (%)	畸形率 (%)	校正死亡率 (%)	校正畸形率 (%)
Concentration	Number of pupae tested	Mortality	Aberration rate	Corrected mortality	Corrected aberration rate
0	90	2.22	0.00	0.00 ± 1.41 e	0.00 ± 0.00 f
0.0001	90	4.44	11.11	2.27 ± 1.41 e	11.11 ± 1.40 e
0.001	90	17.78	20.00	15.91 ± 1.41 d	20.00 ± 1.72 d
0.01	90	31.11	26.67	29.55 ± 1.40 c	26.67 ± 1.72 c
0.1	90	40.00	35.56	38.64 ± 2.44 b	35.56 ± 1.41 b
1	90	44.44	40.00	43.18 ± 1.41 b	40.00 ± 1.72 a
10	90	53.33	42.22	52.27 ± 1.72 a	42.22 ± 1.41 a

用药后蛹的主要中毒症状和羽化出成虫的后效应表现在：(1) 10 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时蛹体由橘红色变成暗褐色或黑褐色，然后死亡(图版 II：B)；(2) 浓度为 1, 0.1, 0.01 和 0.001 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时出现蛹-成虫中间体，1 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时前翅只有翅芽(图版 II：C)；浓度为 0.1 和 0.01 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时，头、胸部羽化而出，且整个头部膨大或上颚膨大，腹部仍留在蛹壳内(图版 II：D, E)；浓度 0.001 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时翅能羽化出，但形态较小未能完全展开(图版 II：F)。(3) 浓度 0.0001 $\mu\text{g}/\text{头}$ 时成虫上颚膨大，前翅翅基、翅身和后缘有皱缩与凹陷(图版 II：G)，成虫前翅皱缩未展开(图版 II：H)，成虫后翅外伸、下垂(图版 II：I)。

2.4 苯氧威对异色瓢虫成虫的影响

用药膜法处理发育一致的成虫，结果见表 5。苯氧威对异色瓢虫成虫的触杀效果较明显，在浓度为

0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时就有死亡，浓度达到 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，接触 48 h 致死率达 50% 以上，随着药剂浓度的升高，死亡率呈明显升高的趋势。24 h 的毒力回归方程为 $y = 0.5856x + 4.6062$ ($R = 0.9158$, $P = 0.0289$)，由此得出 $LC_{50} = 4.7051 \mu\text{g}/\text{mL}$, $LC_{95} = 3.0304 \text{ mg}/\text{mL}$ 。48 h 的毒力回归方程为 $y = 1.0262x + 5.7512$ ($R = 0.9517$, $P = 0.0126$)，由此得出 $LC_{50} = 0.1853 \mu\text{g}/\text{mL}$, $LC_{95} = 7.4286 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。由方差分析结果可知，用药处理 24 h 后，两个较低浓度 0.0125 和 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理间差异不显著，较高浓度 0.05, 0.25 和 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理间差异也不显著。用药处理 48 h，两个较高浓度 0.25 和 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理间差异不显著，而与其他浓度间差异显著。用药后成虫的中毒症状为：前翅不能合拢，后翅外伸。

表 5 苯氧威对异色瓢虫成虫的影响
Table 5 Effect of fenoxycarb on *Harmonia axyridis* adults

浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$) Concentration	成虫数 Number of adults tested	死亡率(%) Mortality		校正死亡率(%) Corrected mortality	
		24 h	48 h	24 h	48 h
0	60	5.00	10.00	0.00 \pm 3.19 b	0.00 \pm 1.92 d
0.0125	60	8.33	15.00	3.47 \pm 1.67 b	5.56 \pm 3.19 cd
0.025	60	11.67	23.33	7.05 \pm 1.67 b	14.78 \pm 3.34 c
0.05	60	23.33	45.00	19.26 \pm 3.33 a	38.89 \pm 1.92 b
0.25	60	26.67	63.33	22.84 \pm 2.72 a	59.22 \pm 4.30 a
0.5	60	30.00	65.00	26.32 \pm 1.92 a	61.11 \pm 5.00 a

3 讨论

从试验结果可以看出，苯氧威严重抑制异色瓢虫初产卵(胚胎发育尚未开始)的发育，被处理的卵大部分胚胎在前期已停止发育，成为“死胎”，死亡率随着处理剂量的增加而增加，说明苯氧威有强烈的杀卵活性。但用浓度高达 50 ~ 20 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量处理异色瓢虫第 2 天的卵，大于 80% 的幼虫仍能正常孵化，并且各浓度间孵化率差异不甚显著，可见苯氧威对异色瓢虫已经开始胚胎发育的卵影响很小。Gardner (1991) 用苯氧威处理秋粘虫 *Spodoptera frugiperda* 表明，处理第 1 天的卵块孵化率明显低于第 2、3 天的卵块。东方云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana* 也是在胚胎发育早期(0 ~ 1 d)明显比 2 ~ 3 d 的卵敏感(Hicks and Gordon,

1992)。Bortolotti 等(2000)用苯氧威不同剂量对普通草蛉 *Chrysoperla carnea* 的研究也表明，处理产卵 24 h 之内的卵，胚胎死亡率很高，而处理 72 ~ 96 h 的卵死亡率则很低，表现出与处理异色瓢虫相似的影响作用。另一种 JHA 蚊蝇醚(pyriproxyfen)处理沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 不同发育时期的卵，3 ~ 6 d 的卵发育受到明显的影响，其中在第 4 天(胚动期)和此之前处理卵，则阻止发育，而处理 7 ~ 10 d 的卵则不敏感(Vennard *et al.*, 1998)。这些都说明，包括苯氧威在内的 JHA 起作用有一个临界时期，可能因不同昆虫而异。家衣鱼 *Thermobia domestica* 则是在胚盘形成后不敏感(Rohdendorf and Sehnal, 1973)，但是对猫栉首蚤 *Ctenocephalides felis* 卵的作用，不局限在胚胎发育的某一时期，而对整个胚胎发育(从早期的胚盘形成到胚动，直到幼虫孵化)都起作用(Marchiondo *et al.*, 1990)。Staal

(1975)注意到一些昆虫生长调节剂(insect growth regulators, IGRs)只有在胚动之前处理能起扰乱胚胎发育的作用,这与胚动期胚胎咽侧体分化形成并开始分泌保幼激素有直接关系,故之后用JHA处理时,表现出不敏感。我们的结果说明,异色瓢虫可能在胚盘形成之前起作用。因此,JHA并不是杀任何时期的卵,在卵早期使用这类杀虫剂时要注意,遇到天敌的成虫期或产卵盛期慎用此类杀虫剂,在防治害虫时则宜使用,但还要视天敌是否为大量发生期。我们的结果还表明,不同剂量引起的初产卵的死亡症状有不同表现,这依赖于不同剂量的苯氧威对胚胎发育的抑制程度不同。可以看出,苯氧威的作用是复杂和多方面的,也是很微妙的,但详细的作用机制尚不得知。

用苯氧威各浓度浸渍处理异色瓢虫2龄幼虫,其存活率均在90%以上,与对照相比没有差异。Kamimura(1995)也发现用低剂量苯氧威局部处理1、2龄家蚕*Bombyx mori*幼虫,其敏感性很低,只有在高剂量时才引起死亡;而5龄家蚕是最敏感的时期,低剂量能抑制化蛹。用苯氧威处理草蛉*Chrysoperla rufilabris*幼虫的3个虫龄,同样表现出1、2龄幼虫敏感性低,而3龄幼虫表现最敏感,而且存活的3龄幼虫做茧受到影响甚至死亡(Liu and Chen, 2001)。这些结果并不意外,早期幼虫常常不直接受保幼激素类似物的影响,因为幼虫本身的内源激素浓度较高(Retnakaran *et al.*, 1985),对外源的JHA有一定抵抗力(Wilson, 2004)。通常,昆虫幼虫的变态是在缺乏保幼激素的情况下由蜕皮激素(20-羟基蜕皮酮)诱导而发生(Riddiford, 1985; Zhou *et al.*, 1998; Reza *et al.*, 2004),其中蛹期定型关键转录因子Broad基因(与成虫器官芽的形成有关)的表达在变态中其关键作用,这已在黑腹果蝇*Drosophila melanogaster*(Karim *et al.*, 1993; Zhou and Riddiford, 2002; Riddiford *et al.*, 2003)、烟草天蛾*Manduca sexta*(Zhou *et al.*, 1998; Zhou and Riddiford, 2001, 2002; Riddiford *et al.*, 2003)、家蚕(Reza *et al.*, 2004)和赤拟谷盗*Tribolium castaneum*(Suzuki *et al.*, 2008; Parthasarathy and Palli, 2009)中证实。在烟草天蛾幼虫变态刚开始时应用蚊蝇醚,能抑制蜕皮激素诱导的蛹期特定转录因子Broad基因的表达,进而影响蜕皮激素级联反应下游一些效应因子基因的错误表达,最终影响幼虫的变态(Zhou *et al.*, 1998)。Parthasarathy和Palli(2009)用烯虫酯(methoprene)和烯虫乙酯

(hydroprene)处理赤拟谷盗倒数第2龄和末龄幼虫(饲喂法),高剂量能完全阻碍从幼虫到蛹的变态;低剂量处理时,对赤拟谷盗影响的程度则因药剂种类、剂量和发育阶段而有差异,表现为阻碍变态、形成超龄幼虫、蛹死亡或成虫不能羽化等,其中烯虫乙酯的影响比烯虫酯更明显。进一步用烯虫乙酯局部处理不同时间末龄幼虫的胸腹部,能形成超龄幼虫、幼虫死亡、幼虫-蛹中间体、蛹畸形等,引起阻碍从幼虫到蛹变态的分子机制是烯虫乙酯能抑制20-羟基蜕皮酮诱导的一系列基因(*EcRA*, *EcRB*, *Broad*, *E74*, *E75A*和*E75B*)的表达,特别是转录因子Broad基因的表达,进而影响从幼虫到蛹的变态。由于烯虫乙酯的存在,幼虫中肠细胞不能经历正常的细胞程序性死亡,阻碍了蛹期成虫器官芽的增殖和分化,导致蛹期中肠的重塑受阻。同样地,烯虫酯也能阻断埃及伊蚊*Aedes aegypti*末龄幼虫(Wu *et al.*, 2006)和烟芽夜蛾*Heliothis virescens*末龄幼虫(Parthasarathy and Palli, 2007)蛹中肠的重塑。遗憾的是我们没有详细研究异色瓢虫幼虫各个龄期的敏感性和对变态的影响及机理,这还有待进一步研究。

用浓度为0.0001~10 μg /头的苯氧威处理异色瓢虫蛹后,形成永久性蛹或蛹-成虫中间体,而不能发育成正常成虫,最终使瓢虫丧失生活能力,影响的程度因剂量而异。在蛹的发育过程中,保幼激素能阻止成虫某些器官芽的发育分化,如能引起体壁的异常,翅芽发育不良,处理后的蛹因不能继续完成发育或蜕皮受阻而形成蛹-成虫中间体而死亡,这种变态抑制作用是JHA的主要活性(Dhadialla *et al.*, 1998)。许多试验表明,苯氧威引起许多昆虫从蛹到成虫的畸形。局部使用苯氧威(0.001~0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)会对茧蜂*Phanerotoma ocularis*(一种外寄生蜂)的蛹造成不利影响,导致其形态异常(Moreno *et al.*, 1993)。用苯氧威处理家蚕(注射法)(Dedos and Fugo, 1999)和甜菜夜蛾*Spodoptera exigua*(腹部局部用药)(Kim *et al.*, 2000)早期蛹,也能影响从蛹到成虫的变态,使成虫羽化受到干扰不能羽化或成虫不能从蛹壳中脱出,两种害虫都伴随着直肠的发育不良或不能发育,是成虫羽化受到干扰的原因。家蚕羽化受阻的机制的部分解释是当外源苯氧威处理昆虫蛹时,苯氧威能刺激前胸腺分泌蜕皮激素,使蜕皮激素含量提高(Dedos and Fugo, 1999),此时直肠不能清除血淋巴中的过高滴度的蜕皮激素,从而影响肌肉的收缩(Kim *et al.*,

2000), 进而干扰羽化。我们通过解剖中毒程度不同的死蛹到羽化出的畸形成虫, 发现它们的直肠囊都不存在, 与处理的家蚕和甜菜夜蛾相似, 这也充分说明, 苯氧威抑制异色瓢虫羽化部分地是由于通过影响直肠发育引致。最近的研究表明, 用 JHA 处理一些昆虫蛹, 影响蛹至成虫变态的分子机制是外源 JHA 能引起 Broad 基因的过表达, 进而抑制蛹到成虫的变态 (Zhou and Riddiford, 2002; Konopova and Jindra, 2008; Suzuki *et al*, 2008)。我们的结果表明, 当用苯氧威 $1 \sim 0.001 \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度处理异色瓢虫早期蛹时, 形成蛹-成虫中间体, 导致变态受阻, 很可能是苯氧威能引起蛹体内 Broad 基因的过表达所致。但是, 通过用不同剂量处理的中毒症状看, 苯氧威作用于当天蛹, 影响是多方面的。建议使用苯氧威时要避开异色瓢虫发育早期的蛹, 以减少对蛹的杀伤。

$0.0125 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 苯氧威处理异色瓢虫成虫后, 其生命力明显受到影响。但前人的研究结果是 JHA 处理瓢虫成虫后, 其生命力没有影响 (Peleg, 1983; Hattingh and Tate, 1995; Liu and Stansly, 2004)。这可能与处理方法有关, 本试验采用的是指管药膜法 (触杀作用), 而前人研究的是 JHA 对瓢虫的经口毒性 (胃毒作用)。

一些田间试验表明, 使用 JHA 能引起害虫种群的增长。室内测定 JHA 对叶螨的重要天敌深点食螨瓢虫 *Stethorus punctillum* 有杀卵作用, 在田间也干扰从幼虫到蛹的蜕皮, 田间使用包括苯氧威在内的其他生长调节剂能引起叶螨种群的增长 (Biddinger and Hull, 1995)。用蚊蝇醚防治南非柑橘上的红圆蚧 *Aonidiella aurantii*, 导致澳洲瓢虫 *Rodolia cardinalis* 绝育, 从而造成害虫吹绵蚧 *Icerya purchasi* 的大暴发 (Hattingh and Tate, 1995)。可以确信, 田间使用苯氧威也会跟其他研究一样, 对异色瓢虫的生长发育产生不同程度的影响。为了更好的使用苯氧威, 建议对多种天敌进行生物测定, 找出处理卵、幼虫和蛹发育的敏感时期, 避开该时期用药, 以减少对天敌杀伤和害虫暴发的风险。另外还要注意苯氧威对天敌的后效应, 这也是我们今后研究的重点。

参 考 文 献 (References)

Biddinger DJ, Hull LA, 1995. Effects of several types of insecticides on the mite predator, *Stethorus punctum* (Coleoptera: Coccinellidae), including insect growth regulators and abamectin. *Journal of*

Economic Entomology, 88(2): 358–366.

Bortolotti L, Porrini C, Sbrenna AM, Sbrenna G, 2000. Ovicidal action of fenoxycarb on a predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Applied Entomology and Zoology*, 35: 265–270.

Dedos SG, Fugo H, 1999. Disturbance of adult eclosion by fenoxycarb in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, 45: 257–264.

Dhadialla TS, Carlson GR, Le DP, 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology*, 43: 545–569.

Dhadialla TS, Retnakaran A, Smagghe G, 2005. Insect growth- and development-disrupting insecticides. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS eds. *Comprehensive Insect Molecular Science*. Vol. 6. Elsevier, Oxford. 55–115.

Flatt T, Tu MP, Tatar M, 2005. Hormonal pleiotropy and the juvenile hormone regulation of *Drosophila* development and life history. *BioEssays*, 27: 999–1010.

Gardner WA, 1991. Ovicidal properties of fenoxycarb against the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 74: 257–261.

Goodman WG, Granger NA, 2005. The juvenile hormone. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS eds. *Comprehensive Insect Molecular Science*. Vol. 3. Elsevier, Oxford. 319–327, 367–371.

Grenier S, Grenier AM, 1993. Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. *Annals of Applied Biology*, 122: 369–403.

Hattingh V, Tate B, 1995. Effects of field-weathered residues of insect growth regulators on some Coccinellidae (Coleoptera) of economic importance as biocontrol agents. *Bulletin of Entomological Research*, 85: 489–493.

Hicks BJ, Gordon R, 1992. Effects of the juvenile hormone analog fenoxycarb on various developmental stages of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Entomologist*, 124: 117–123.

Karim FD, Guild GM, Thummel CS, 1993. The *Drosophila* Broad-Complex plays a key role in controlling ecdysone-regulated gene expression at the onset of metamorphosis. *Development*, 118: 977–988.

Kamimura M, 1995. Effects of a juvenile hormone analogue, fenoxycarb, on larval growth of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Applied Entomology and Zoology*, 30(3): 487–489.

Kim Y, Kim D, Lee J, 2000. Disturbance of adult eclosion by fenoxycarb, a juvenile hormone mimic, in the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 3(2): 103–111.

Konopova B, Jindra M, 2008. Broad-Complex acts downstream of Met in juvenile hormone signaling to coordinate primitive holometabolism metamorphosis. *Development*, 135: 559–568.

Liu TX, Chen TY, 2001. Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *Florida Entomologist*, 84(4): 628–633.

- Liu TX, Stansly PA, 2004. Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Biological Control*, 30(2): 298–305.
- Marchiondo AA, Riner JL, Sonenshine DE, Rowe KF, Slusser JH, 1990. Ovicidal and larvicidal modes of action of fenoxycarb against the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 27: 913–921.
- Mendel Z, Blumberg D, Ishaaya I, 1994. Effects of some insect growth regulators on natural enemies of scale insects (Hom.: Coccoidea). *Entomophaga*, 39: 199–209.
- Moreno J, Hawitzky N, Jimenez R, 1993. Morphological abnormalities induced by fenoxycarb on the ectoparasitic larval stage of *Phanerotoma* (*Phanerotoma*) *ocularis* Kohl. (Hymenoptera, Braconidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 115(2): 170–175.
- Parthasarathy R, Palli SR, 2007. Developmental and hormonal regulation of midgut remodeling in a lepidopteran insect, *Heliothis virescens*. *Mechanisms of Development*, 124: 23–34.
- Parthasarathy R, Palli SR, 2009. Molecular analysis of juvenile hormone analog action in controlling the metamorphosis of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 70(1): 57–70.
- Peleg BA, 1983. Effect of 3 insect growth regulators on larval development, fecundity and egg viability of the coccinellid *Chilocorus bipustulatus* (Col.: Coccinellidae). *Entomophaga*, 28: 117–121.
- Reza AMS, Kanamori Y, Shinoda T, Shimura S, Mita K, Nakahara Y, Kiuchi M, Kamimura M, 2004. Hormonal control of a metamorphosis-specific transcriptional factor Broad-Complex in silkworm. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 139: 753–761.
- Retnakaran A, Granett J, Ennis T, 1985. Insect growth regulators. In: Kerkut GA, Gilbert LI eds. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol. 12. Pergamon Press, Oxford. 529–601.
- Riddiford LM, 1985. Hormone action at the cellular level. In: Kerkut GA, Gilbert LI eds. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol. 8. Pergamon Press, Oxford. 37–84.
- Riddiford LM, Hiruma K, Zhou X, Nelson CA, 2003. Insights into the molecular basis of the hormonal control of molting and metamorphosis from *Manduca sexta* and *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 1 327–1 338.
- Rohdendorf EB, Sehna F, 1973. Inhibition of reproduction and embryogenesis in the firebrat, *Thermobia domestica*, by juvenile hormone analogues. *Journal of Insect Physiology*, 19: 37–56.
- Staal GB, 1975. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology*, 20: 417–460.
- Suzuki Y, Truman JW, Riddiford LM, 2008. The role of Broad in the development of *Tribolium castaneum*; Implication for the evolution of the homometabolous insect pupa. *Development*, 135: 569–577.
- Tang QY, Feng MG, 2007. DPS Data Processing System. Science Press, Beijing. 85–98, 327–342. [唐启义, 冯明光, 2007. DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 85–98, 327–342].
- Vennard C, Nguama B, Dillon RJ, Oouchi H, Chamley AK, 1998. Effects of the juvenile hormone mimic pyriproxyfen on egg development, embryogenesis, larval development, and metamorphosis in the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Economic Entomology*, 91: 41–49.
- Wilson TG, 2004. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: How these compounds kill insects. *Journal of Insect Physiology*, 50: 111–121.
- Wu Y, Parthasarathy R, Bai H, Palli SR, 2006. Mechanisms of midgut remodeling: Juvenile hormone analog methoprene blocks midgut metamorphosis by modulating ecdysone action. *Mechanisms of Development*, 123: 530–547.
- Zhang ZB, 1988. Toxicity Determination of Pesticides. Science Press, Beijing. 6–13, 359–372. [张宗炳, 1988. 杀虫剂的毒力测定. 北京: 科学出版社. 6–13, 359–372.]
- Zhou B, Hiruma K, Shinoda T, Riddiford LM, 1998. Juvenile hormone prevents ecdysteroid-induced expression of Broad Complex RNAs in the epidermis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Developmental Biology*, 203: 233–244.
- Zhou B, Riddiford LM, 2001. Hormonal regulation and patterning of the Broad-Complex in the epidermis and wing discs of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Developmental Biology*, 231: 125–137.
- Zhou X, Riddiford LM, 2002. Broad specifies pupal development and mediates the ‘status quo’ action of juvenile hormone on the pupal-adult transformation in *Drosophila* and *Manduca*. *Development*, 129: 2 259–2 269.

(责任编辑:赵利辉)

尹素芬等：保幼激素类似物苯氧威对异色瓢虫不同发育阶段的影响

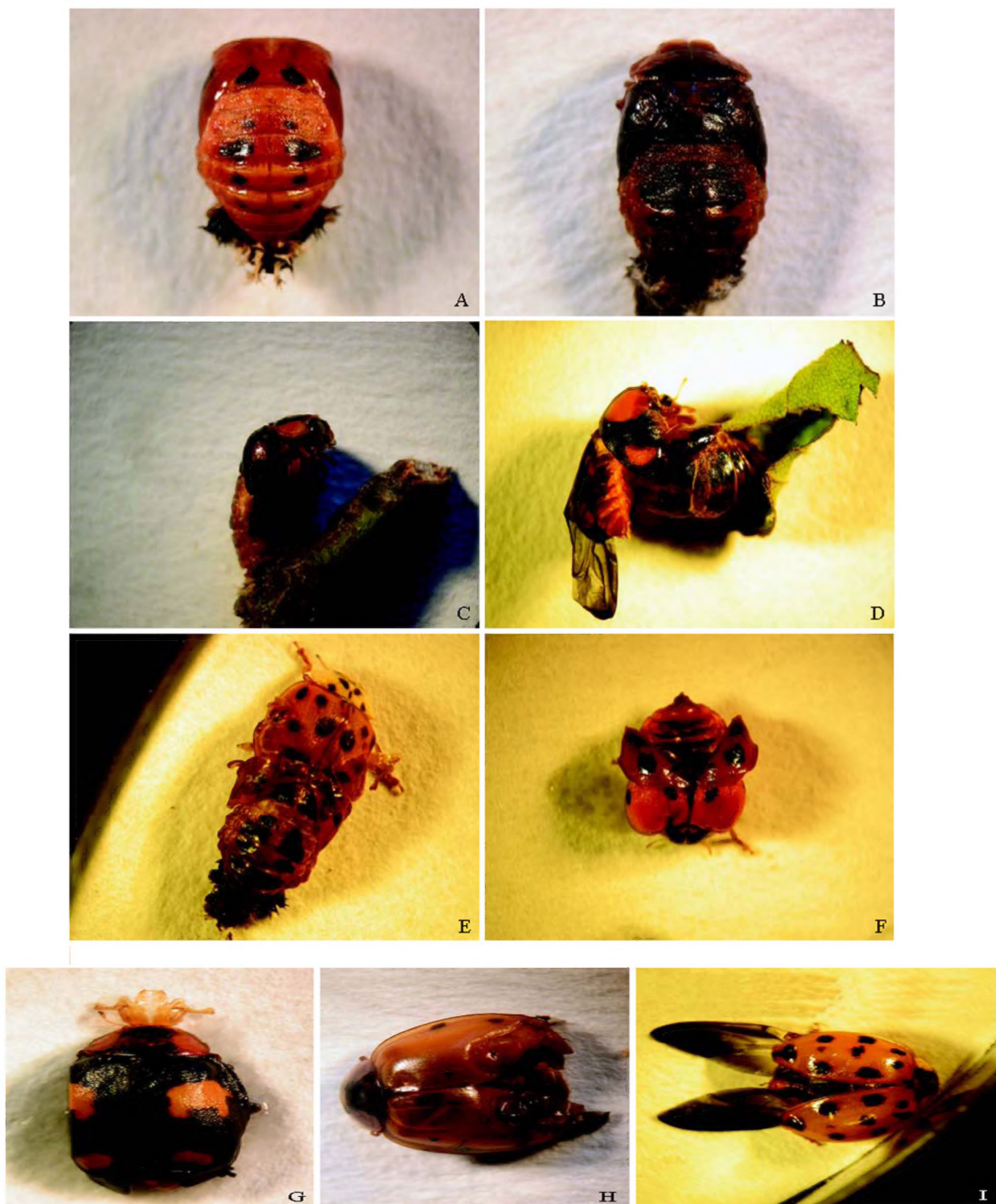
图版 I

YIN Su-Fen *et al.*: Effects of fenoxycarb, a juvenile hormone analog, on various developmental stages of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) Plate I



A: 正常的卵 Normal egg mass (CK); B: 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后, 中毒和死亡的卵, 出现暗褐斑 The poisonous and dead eggs with dark brown spots on their surface after treatment with 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; C: 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后, 胚胎死亡(腹面观), 幼虫附肢可见 The dead embryos (ventral view), showing the appendages of the larva after treatment with 0.001 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; D: 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后, 胚胎死亡(背面观), 幼虫腹部分节可见 The dead embryos (dorsal view), showing the segments of the larva abdomen after treatment with 0.01 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; E: 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后, 胚胎在黑色卵壳内死亡(腹面观), 幼虫附肢可见 The dead embryos with the dark egg shell (ventral view), showing the appendage of the larva after treatment with 0.1 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; F: 1 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后, 处理前期卵暗褐色和带有暗红色眼点 The dead eggs with dark brown color and the red eye spots at the early stage of treatment with 1 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; G: 1 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后期卵暗褐色并有浊液流出 The dead and liquescent eggs with dark brown color at the late stage of treatment with 1 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; H: 正常的幼虫 Normal larvae (CK); I: 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后孵化的幼虫 Abnormal larva hatched from the treated eggs, swollen, dark yellow and with disabled legs.

尹素芬等：保幼激素类似物苯氧威对异色瓢虫不同发育阶段的影响 图版 II
 YIN Su-Fen *et al.*: Effects of fenoxycarb, a juvenile hormone analog, on various developmental stages of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) Plate II



A: 正常的蛹 Normal pupae (CK); B: 10 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理, 蛹停止发育变成黑褐色, 最后死亡 The poisonous and dead pupae with dark brown color after treatment with 10 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb; C - F: 苯氧威处理后出现蛹-成虫中间体 The pupa-adult intermediates formed after treatment with fenoxycarb; C: 1 $\mu\text{g/mL}$; D: 0.1 $\mu\text{g/mL}$; E: 0.01 $\mu\text{g/mL}$; F: 0.001 $\mu\text{g/mL}$; G - I: 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 苯氧威处理后成虫畸形 Deformed adults after treatment with 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ fenoxycarb. G: 口器畸形 Abnormal mouthparts; H: 翅畸形 Abnormal wings; I: 前翅不能合拢后翅外伸 Forewings not closed and hindwings stretched out from under the forewings.